革兰氏阳性菌脂蛋白的研究进展*

吴小芳[1,2,3]，刘家亨[1,2,3]，熊慧[1,2,3]，乔建军[1,2,3]，朱宏吉[1,2,**]

(1 天津大学化工学院 天津 300072；2 系统生物工程教育部重点实验室 天津 300072；3 天津化学化工协同创新中心合成生物学平台 天津 300072)

摘要：细菌脂蛋白是细胞膜的重要组成部分，对细菌发挥各种生理活性起重要作用，与营养摄取、环境感知、细胞膜和细胞壁稳态的维持、蛋白质的折叠和定位等过程密切相关。随着生物技术不断发展和完善，越来越多的脂蛋白种类及功能被发现。本文综述了革兰氏阳性菌中脂蛋白的功能、生物合成过程和应用方面的研究进展，重点介绍了脂蛋白生物合成过程中关键酶磷脂酰甘油转移酶（Lipoprotein diacylglyceryl transferase，Lgt）和脂蛋白信号肽酶（Lipoprotein signal peptidase II，LspA）对革兰氏阳性菌生理活性产生的影响，为今后革兰氏阳性菌脂蛋白的研究提出了展望和建议。

关键词：脂蛋白；革兰氏阳性菌；疫苗；Lgt；LspA

中图分类号：Q935

Research Progress of Lipoprotein in Gram-positive Bacteria *

WU Xiao-fang[1,2,3] LIU Jia-heng[1,2,3] XIONG Hui[1,2,3] QIAO Jian-jun[1,2,3] ZHU Hong-ji[1,2,**]

（1. School of Chemical Engineering and Technology, Tianjin University, Tianjin 300072, China; 2. Key Laboratory of Systems Bioengineering of Ministry of Education, Tianjin University, Tianjin 300072, China; 3. Syn Bio Research Platform, Collaborative Innovation Center of Chemical Science and Engineering, Tianjin University, Tianjin 300072, China;)

Abstract:

As important components of cell membrane. bacterial lipoproteins play critical roles in many physiological process of bacteria, such as nutrient acquisition, environmental sensing, maintaining cell envelope and cell wall stability and electron transfer. With the continuous development and improvement of biotechnology, more and more lipoprotein as well as their functions have been discovered. This paper reviews the research progress of lipoprotein functions, biosynthesis and applications in Gram-positive bacteria. The influence of Lgt and LspA, key enzymes in lipoprotein biosynthesis, on physiological activity of Gram-positive bacteria is also addressed. Finally, the prospect and suggestion are provided for the future research on Gram-positive bacteria lipoproteins.

Keywords: Lipoprotein; Gram-positive bacteria; Vaccine; Lgt; LspA

*国家自然科学基金资助项目（31570089）

**通讯作者，电子邮箱：zhj@tju.edu.cn

1 引言

细菌脂蛋白是一类锚定在细胞膜上的分泌蛋白，这类蛋白与普通蛋白主要通过N末端的脂质部分来区分。细菌脂蛋白作为细菌细胞膜的重要组成成分，在细菌的生命活动及与外界的联系中起重要作用。脂蛋白前体在核糖体由mRNA直接翻译合成，然后经细胞膜上的翻译后修饰过程形成成熟的脂蛋白。1973年，Hantke和Braun[1]首次在大肠杆菌中发现脂质修饰是通过将乙二酰基共价加成到脂蛋白信号肽的保守半胱氨酸残基上实现的。这一修饰过程为种类繁多功能丰富的脂蛋白提供了共同的锚定机制。人们主要通过三种方法鉴定出大量的细菌脂蛋白：（1）利用放射性同位素标记脂肪酸（尤其是棕榈酸）来追踪其代谢途径发掘脂蛋白；（2）利用格罗泊霉素抑制脂蛋白信号肽的切割，进而干扰脂蛋白的合成过程；（3）利用脂蛋白前体信号肽中存在的共有保守序列鉴定脂蛋白[2;3]。随着生物信息学和测序技术的发展，第三种方法已经成为鉴定新的脂蛋白最有效的途径。

脂蛋白在革兰氏阴性菌中的研究较为广泛[2]，但近几年来，在革兰氏阳性菌中的研究也取得了突破性进展[4]。比如，在一些革兰氏阳性病原菌中，脂蛋白是其在复杂环境中生存和致病不可或缺的毒力因子，直接参与病原菌的多种致病机制，如入侵、细菌定殖和干扰宿主免疫系统等[5]。同时脂蛋白也是很多革兰氏阳性菌中重要的免疫刺激因子，能够触发宿主的先天性免疫系统，这也表明脂蛋白是性能优异的候选疫苗。本文主要综述了近年来革兰氏阳性菌中脂蛋白功能、生物合成及其应用方面的研究成果，为今后革兰氏阳性菌脂蛋白的深入研究拓宽了研究思路。

2 革兰氏阳性菌脂蛋白的功能研究

基于生物信息学分析结果，革兰氏阳性菌中脂蛋白含量丰富，约占总蛋白的 2%[6;7;8]。目前，研究人员主要根据革兰氏阳性菌脂蛋白的功能对其进行分类[4]，这些功能主要包括脂蛋白在营养摄取、环境感知、细胞膜和细胞壁稳态的维持、蛋白质的折叠和定位等方面发挥的重要作用[9]。

2.1 脂蛋白在营养摄取方面的功能

革兰氏阳性菌中大部分脂蛋白属于 ABC 转运系统中的底物结合蛋白（Substrate binding proteins，SBPs），占脂蛋白总量的 40%。SBPs 具有很高的底物结合能力[10;11]，主要用于 ABC 转运系统中向胞内转运营养物质，包括糖类、铁载体、二价金属离子、阴离子（如硫酸盐和磷酸盐）、核苷酸、氨基酸和寡肽等。根据转运底物的不同，SBPs 被分为至少 9 个家族[12;13;14]。比如脂蛋白 OppA、OptA 和 OptS 属于寡肽转运家族，主要负责乳酸乳球菌对外界氮源的摄取[15]。因此，革兰氏阳性菌脂蛋白对于 ABC 转运系统的特异性、定向性和广泛性至关重要。

2.2 脂蛋白在环境感知方面的功能

在某些革兰氏阳性菌中，特定小肽是菌体对环境感知的一种重要信号分子，脂蛋白可以通过对该类小肽的转运调节群体感应和孢子生产过程[16;17]。有研究发现，在肠球菌（*Enterococcus*）中，特定脂蛋白的信号肽被切割后经胞内蛋白酶（如 Eep）水解产生的小分子寡肽可以作为细胞间相互感知的信息素分泌到外界环境中，并由脂蛋白依赖型寡肽 ABC 渗透酶转运到细胞内，进而实现细菌细胞间的信号传递[17;18]。另外，脂蛋白在革兰氏阳性菌的细胞膜感应过程中也发挥着重要的作用，主要体现在特定脂蛋白对双组份信号转导系统及枯草芽孢杆菌（*Bacillus subtilis*）产孢相关受体蛋白（GerAC、GerBC、GerD 和 GerKC）的调节作用[19;20]。

2.3 脂蛋白在维持细胞膜和细胞壁稳态方面的作用

研究表明，脂蛋白在维持革兰氏阳性菌的细胞膜稳定和细胞壁交联方面起着重要的作用。比如，在细胞膜上锚定的青霉素结合蛋白可以与青霉素特异性结合，有效保护细胞膜免受青霉素破坏。另外，肽聚糖水解酶是一类能水解细胞壁肽聚糖肽键的脂蛋白，对于细胞壁肽聚糖的生物合成至关重要[21]。最近研究表明在肠球菌和结核分枝杆菌（*Mycobacterium tuberculosis*）中， L，D-转肽酶 ErfK 在细胞壁肽聚糖的交联方面起关键作用，这也有可能是细菌中肽聚糖回收或重组的一种途径[22;23]。基因组分析表明，很多革兰氏阳性菌都编码与这一功能相关的蛋白，其中脂蛋白是该类蛋白的重要组成部分。例如在结核分枝杆菌（*M. tuberculosis* H37Rv）中，四个 ErfK 蛋白中有两个被预测为脂蛋白[8]。这一类脂蛋白很可能参与细胞壁蛋白的锚定，与转肽酶的作用机制相似[24]。

2.4 脂蛋白在蛋白质折叠和定位方面的功能

在革兰氏阳性菌中，脂蛋白也参与某些蛋白的折叠过程。许多脂蛋白类的肽脯氨酰异构酶（Peptidyl-prolyl isomerase，PPIase），如枯草芽孢杆菌中的 PrsA[25]和链霉菌中的 FrbA[26]，能够加速蛋白的胞外折叠进程。需要指出的是，并非所有 PPIases 都如 PrsA 一样具有顺反异构酶活性，该家族中其他脂蛋白可能会与 Sec 分泌系统中暴露的底物相互作用，对于革兰氏阳性病原菌的毒力非常重要[26;27]。另外，脂蛋白对某些膜蛋白的定位也起了很大的作用。其中膜蛋白插入酶 YidC 可以独立存在于 Sec 分泌系统之外，将 Pf3 外壳蛋白定位到磷脂双分子层中[28]。

2.5 脂蛋白在其他方面的功能

随着对脂蛋白的研究越来越深入，脂蛋白的更多其他功能也陆续被发现。近年来，对于脂蛋白 DsbA 功能的研究表明脂蛋白可以参与到细胞膜表面的电子传递过程。DsbA 是葡萄球菌（*Staphylococci*）中的一个氧化还原酶，催化硫醇-二硫键的相互交换[29]。锚定在细胞膜表面的脂蛋白

在革兰氏阳性菌粘附性方面也发挥着重要作用。比如，脂蛋白 SsaB 是血链球菌（*Streptococcus sanguis*）与唾液相互作用的粘附素[30]。与野生菌株相比，缺失脂蛋白 OppA 的猪链球菌（*Streptococcus suis*）对于人体上皮细胞的粘附性大大降低[31]。革兰氏阳性菌脂蛋白可以识别 TLR2 受体，是触发免疫系统反应的重要因素[32]。对革兰氏阳性菌的基因组分析表明大量的假定脂蛋白仍未被鉴定出来，挖掘新的脂蛋白及其更广泛的功能将是后基因时代的一个重要挑战，这对进一步探究革兰氏阳性菌细胞膜的生理学特性有重要意义。

3 革兰氏阳性菌脂蛋白生物合成

细菌脂蛋白的生物合成途径最早是在大肠杆菌中建立的。脂蛋白前体在核糖体由mRNA直接翻译合成，经过Sec或者Tat分泌途径转运后，由脂蛋白信号肽中的一段保守区域（Lipobox）引导到脂蛋白生物合成过程中[2]。这段保守区域的序列通常是$[L/V/I]_{-3}$-$[A/S/T/G]_{-2}$-$[G/A]_{-1}$-C_{+1}，其中+1位的半胱氨酸在所有的细菌脂蛋白中都是存在的[33]。如图1（a）所示，在革兰氏阴性菌中，脂蛋白的生物合成途径可以分为三步：（1）磷脂酰甘油转移酶（Lipoprotein diacylglyceryl transferase，Lgt）催化转移乙二酰基到+1位的保守半胱氨酸残基上，同时形成硫醚键[34]。（2）当脂蛋白前体穿过细胞膜的时候，脂蛋白信号肽酶（Lipoprotein signal peptidase II，LspA）识别由乙二酰基修饰的脂蛋白信号肽，并在保守序列的保守切割位点（-1位氨基酸和+1位脂质修饰的半胱氨酸之间）将信号肽切除，在成熟脂蛋白的N末端保留由脂质修饰了的半胱氨酸[35]。在大多数革兰氏阳性菌中，脂蛋白的形成在这一步终止[36]。（3）磷脂酰基转移酶（Lipoprotein N- acyl transferase, Lnt）在脂质修饰后的半胱氨酸的自由氨基上添加第三种脂肪酸，同时形成酰胺键[37]。有研究表明革兰氏阴性菌中成熟脂蛋白通过Lol（Lipoprotein localisation）途径由细胞内膜到达细胞外膜，而在革兰氏阳性菌中不存在Lol途径和细胞外膜，脂蛋白仅位于细胞膜的外侧，且脂蛋白+2位的天冬氨酸对于其在细胞膜上的锚定发挥着重要作用[38]。最后一步对于革兰氏阴性菌中脂蛋白从细胞内膜上释放以及通过Lol途径到达细胞外膜是至关重要的，缺失Lnt会造成脂蛋白在细胞内膜上大量积累，进而导致细胞死亡[39]。上述脂蛋白生物合成途径中的前两步在革兰氏阳性菌中与革兰氏阴性菌相同，而最后一步只存在于革兰氏阴性菌和一些高GC含量的革兰氏阳性菌中（如图1（b）所示）[40]。此外，研究发现在单增李斯特菌（*Listeria monocytogenes*）中，LspA可以切除未进行脂修饰的底物脂蛋白上的信号肽，这表明该途径在革兰氏阳性菌中并不总按照严格顺序进行[41]。

尽管脂蛋白前体在缺失了 *lgt* 以后不能进行脂质修饰，但是它们仍然可以通过未修饰的信号肽锚定在细胞膜上。也有研究证明了菌株缺失 *lspA* 以后，虽然半胱氨酸残基经过了脂质修饰，但是信号肽并没有被切除，因此脂蛋白仍然可以通过信号肽锚定在细胞膜上（见图 2）。但是，脂蛋白突变体

锚定在细胞膜上的作用力会降低，尤其是在生长稳定期将会增加未经脂质修饰或者未切割信号肽脂蛋白的释放[42]。

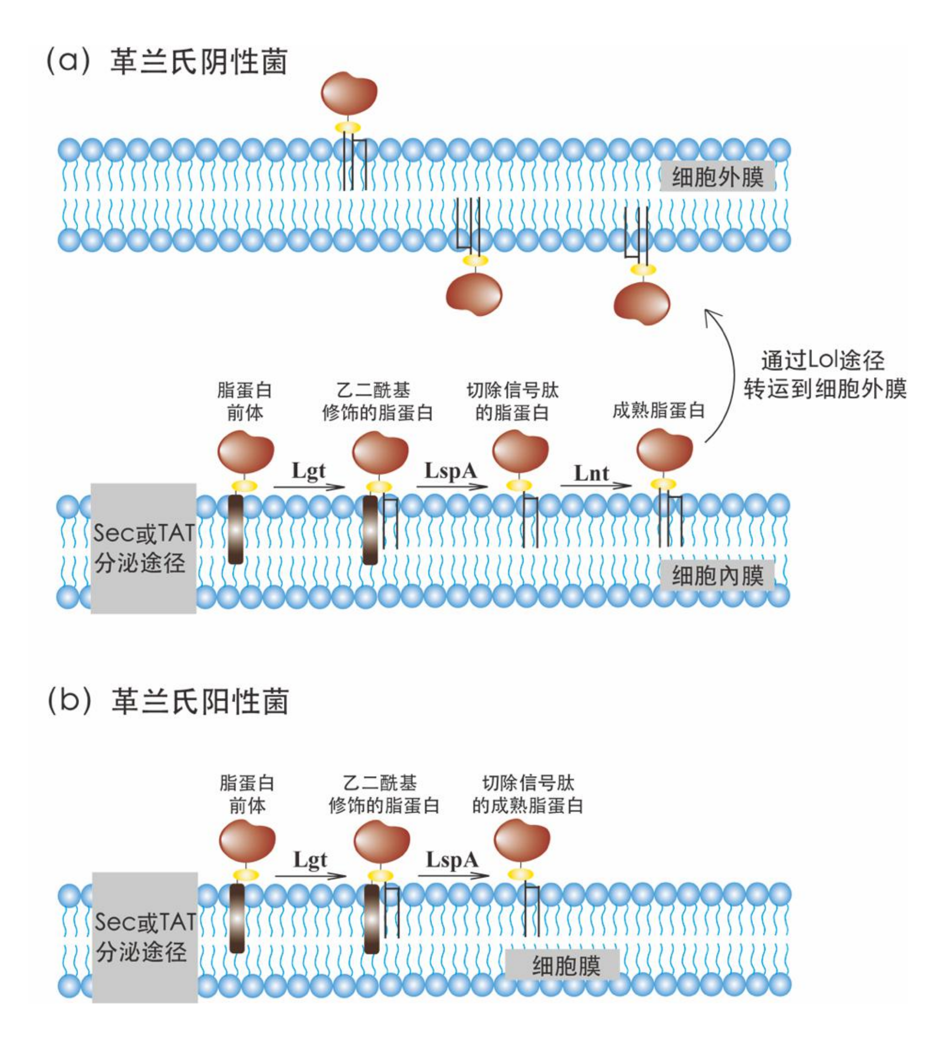


图 1. 脂蛋白的生物合成过程

Figure 1. The biosynthesis process of lipoprotein

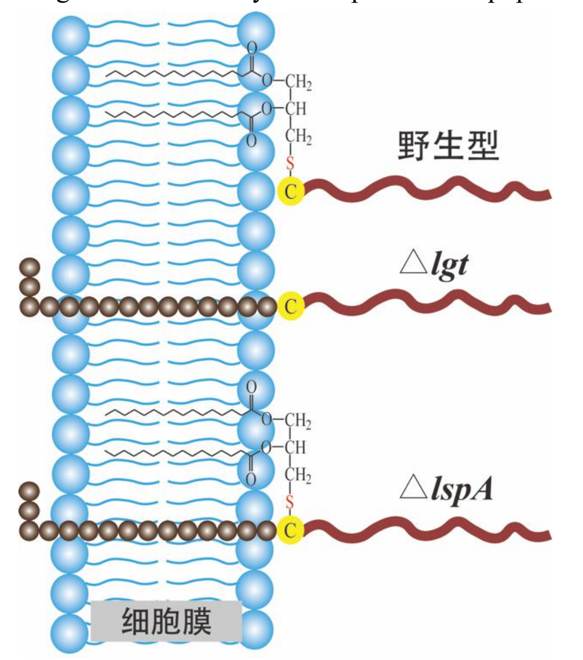


图 2 成熟脂蛋白和未完全修饰脂蛋白前体与细胞膜的结合

Figure 2. Membrane incorporation of mature lipoprotein and unmodified pre- lipoprotein

4 Lgt和LspA对于革兰氏阳性菌生理活性的影响

由于Lgt和LspA是脂蛋白生物合成过程中的关键酶，且脂蛋白在革兰氏阳性菌中具有多种功能，近年来关于Lgt和LspA对革兰氏阳性菌生理活性的影响进行了广泛研究。研究结果表明Lgt和LspA对于革兰氏阴性菌的生长是必需的[43]，而对于革兰氏阳性菌的生长影响较小。胞外蛋白酶PrtM和寡肽转运蛋白OppA是乳酸乳球菌（*Lactococcus lactis*）在牛奶中生长所必需的脂蛋白，PrtM能够将外界大分子蛋白水解成寡肽，并由OppA转运至细胞内，为菌株生长提供必需氨基酸。然而Venema等[44]人发现乳酸乳球菌的 *lspA*突变体能在牛奶中生长良好。同样，PrsA是枯草芽孢杆菌中的一个重要脂蛋白，但是*lgt*和*lspA*突变菌株均能正常生长[45;46]。*lgt*或*lspA*缺陷型革兰氏阳性菌菌株未丧失生存能力的原因可能是大部分脂蛋白前体还保留相应的功能。

表 1 革兰氏阳性菌 *lgt* 或 *lspA* 突变菌的表型

Table1 Phenotypes of *lgt* and *lspA* mutants of Gram-positive bacteria

物种	突变基因	表型	参考文献
Mycobacterium tuberculosis	*lspA*	毒力明显降低；在小鼠巨噬细胞中的增殖能力降低；在小鼠脾脏细胞内的生长能力降低。	[47]
Mycobacterium bovis	*lspA*	外周血单核细胞 CD4+T 细胞中 HIV 病毒的传染性降低	[48]
Clostridium difficile	*lgt*	产孢能力下降	[49]
Staphylococcus aureus	*lgt*	在营养丰富的培养基中正常生长，但在营养成分不足的培养基中生长受限；侵染人体单核细胞、上皮细胞、内皮后，细胞促炎症因子分泌减少	[42]
	lgt	对 C57BL/6 脓毒症小鼠的致病性降低	[50]
	lgt	在血液或激活的巨噬细胞中生长受限；菌体的免疫反应无法激活；逃避宿主免疫系统识别，毒力增强	[51]
	lgt	影响脂蛋白与细胞膜的共价连接；导致脂蛋白在培养基中积累	[52]
	lgt	不能诱导产生 IL-8；抑制菌体刺激 IL-6 等的能力；TLR2 介导的免疫激活反应受到影响	[53]
	lspA	毒力减弱	[54]，[55]
Streptococcus agalactiae	*lgt*	生长能力不受影响；氧耐受能力下降；细胞膜组成发生变化；对胎儿内皮细胞的粘附作用降低	[56]
	lgt	生长变慢；对小鼠细胞毒力增强；不能通过释放脂蛋白与 TLR2 相互作用来激活免疫反应	[57]
	lspA	生长变慢；不能通过 TLR2 激活免疫反应	
Streptococcus pneumoniae	*lgt*	生存能力降低	[58]
	lspA	影响了在动物细胞中的毒力；氧耐受能力降低；在人类血液中的生存能力降低	[59]

Streptococcus gordonii	*lgt*	无法通过 TLR2 激活反应来诱导人体 PDL 细胞中 IL-8 的产生	[60]
	lgt	不能正常表达iNOS；TLR2介导的免疫激活反应受到影响	[61]
Listeria monocytogenes	*lgt*	生长略微减慢；对阳离子肽的敏感性增加； TLR2 介导的免疫激活反应受到影响；对小鼠细胞毒力减弱	[62]，[63]
	lspA	在巨噬细胞中生长减慢，吞噬体逃逸；毒力减弱	[64]
Enterococcus faecalis	*lgt*	影响生长；毒力减弱	[65]
Bacillus anthracis	*lgt*	影响产孢；毒力减弱	[66]
Lactococcus lactis	*lspA*	不影响菌体的生长；产生带有信号肽的脂蛋白前体，但是不影响其功能，如 PrtM 和 OppA	[44]
Streptomyces coelicolor	*lgt*	不影响菌体的形态和生长	[67]
	lspA	影响了菌体生长和孢子形成；影响脂蛋白对细胞膜的锚定	
Streptococcus mutans	*lgt*	影响脂蛋白 MsmE 的定位，且与培养条件有关	[68]
	lspA	影响了脂蛋白在细胞膜上的锚定及功能	

虽然革兰氏阳性菌 *lgt* / *lspA* 突变菌在生长方面受到的影响较小，但是在菌体的其他表型方面表现出较大的差异，这些表型包括蛋白分泌、孢子形成、对侵染细胞的毒力和免疫激活能力等。对 *lspA* 进行突变后，天蓝色链霉菌（*Streptomyces coelicolor*）产生大量信号肽未切割的脂蛋白，其产孢能力受到严重影响。在许多革兰氏阳性病原菌中，脂蛋白在病原菌和宿主的相互作用中起到维持病原菌毒力的作用[69]。近年来，*lgt* / *lspA* 突变对革兰氏阳性病原菌的影响的研究较为广泛。通过对比金黄色葡萄球菌（*Staphylococcus aureus*）野生型菌株和 *lgt* 突变型菌株的表型，研究者发现 *lgt* 的缺失影响了脂蛋白与细胞膜的共价连接，导致脂蛋白在培养基中大量积累[52]。脂蛋白的成熟对于免疫信号非常重要，*lgt* 突变菌株在侵染人体单核细胞、上皮细胞和内皮细胞后，细胞促炎症因子的分泌显著减少[42]。此外，多种金黄色葡萄球菌的 *lgt* 突变菌株的致病性都受到了严重影响。与野生型菌株相比，金黄色葡萄球菌 *lgt* 突变菌株通过小鼠腹腔巨噬细胞内的 TLR2-MyD88 信号传导途径影响了早期细胞因子的产生，对 C57BL/6 脓毒症小鼠致病性降低[50]。表 1 总结了近年来报道的革兰氏阳性菌中 *lgt* / *lspA* 突变对菌株表型的影响。

5 革兰氏阳性菌脂蛋白在疫苗开发中的应用

鉴于革兰氏阳性菌在致病菌的毒力方面发挥的重要作用，开发脂蛋白疫苗成为近几年来备受关注的研究方向。临床试验表明，脂蛋白疫苗 OspA 对 Lyme 疾病的预防非常有效，OspA 由伯氏疏螺旋体（*Borrelia burgdorferi*）合成[70;71]。金黄色葡萄球菌的致病机制非常复杂，病原体表达大量的毒 shi 素和免疫逃避因子，目前机体针对金黄色葡萄球菌的免疫机制还不明确，因此开发金黄色葡萄球菌的防护疫苗是非常困难的[72]。研究表明，黄色葡萄球菌 *lgt* 突变体的毒力受到严重影响，这表明脂蛋白对其致病能力发挥了重要作用。研究人员对细胞膜表面蛋白进行了蛋白质组学分析，挖掘出 7 种毒力相关脂蛋白。其中，MntABC 系统中的锰结合蛋白 MntC 对能够耐受甲氧西林的金黄色葡萄球菌的感染能力是必不可缺的。进一步研究表明，MntC 在金黄色葡萄球菌属（*Staphylococcus*）中是高度保守的，主要在感染周期的早期表达[73]。因此，MntC 是一个很有前景的预防金黄色葡萄球菌感染的候选疫苗。目前动物实验表明 MntC 自动免疫能有效降低金黄色葡萄球菌和表皮葡萄球菌（*Staphylococcus epidermidis*）对急性菌血症小鼠的感染[74]。 FhuD2 是另一个预防金黄色葡萄球菌感染的潜在候选脂蛋白疫苗，它可以结合纳摩尔级的铁色素，并参与菌株对异羟肟酸铁的摄取过程[75;76]。单独接种 FhuD2 或者接种 FhuD2 与异羟肟酸铁载体的复合物可以有效预防金黄色葡萄球菌对小鼠的感染[77]。

6 展望

在过去的几十年，随着生物技术的进步，细菌脂蛋白的研究取得了显著进步，不仅阐明了细菌脂蛋白的结构及合成途径，而且也挖掘出其更加丰富的功能。另外，利用高通量测序技术也鉴定得到了大量脂蛋白合成及翻译后修饰所涉及的基因信息。这些成果也为脂蛋白在免疫学等方面的应用奠定了基础。然而，生物信息学分析表明革兰氏阳性菌中未知功能的脂蛋白占据了其蛋白总量的 2%，其中很大部分为膜蛋白能够与很多分泌蛋白有相互作用。利用脂蛋白组学分析和脂蛋白二维凝胶电泳技术等对这些未知功能脂蛋白的挖掘依旧是细菌脂蛋白研究的前沿方向。

此外，单独将某个脂蛋白分离纯化后研究其功能及作用机制是不合理的，在研究过程中一定不能忽视脂蛋白存在形式(是否进行乙二酰基修饰或者含有信号肽)对其定位的影响，因为脂蛋白是附着在膜上或是游离于膜外对其功能的发挥有着巨大影响。例如研究人员发现乳酸乳球菌 nisin 免疫系统中的脂蛋白 NisI 只有锚定在细胞膜上才能最大程度发挥 nisin 免疫功能，而游离于胞外的 NisI 却能增强 nisin 的活性[78;79]。因此，关于翻译后修饰过程对于脂蛋白定位及功能的影响以及脂蛋白定位与其功能之间的联系值得进一步研究。目前，大部分脂蛋白疫苗的开发仍停留在临床试验阶段，更加有效的脂蛋白疫苗筛选方法也急需建立，其中最大的挑战是对脂蛋白的脂质部分在病原菌侵染细胞过程中激发免疫反应、引起炎症及致病的机制进行阐明。随着人们对脂蛋白的功能、生物合成途径及其生物活性的探索发现，其应用前景将会更加广阔，其多种有益的生物学功能将会得到更加广泛的应用。

参考文献:

[1] Hantke K, Braun V. Covalent binding of lipid to protein. The FEBS Journal, 1973, 34(2): 284-296.
[2] Braun V, Wu H C. Lipoproteins, structure, function, biosynthesis and model for protein export. New comprehensive biochemistry. Elsevier, 1994, 27: 319-341.
[3] von Heijne G. The structure of signal peptides from bacterial lipoproteins. Protein Engineering, Design and Selection, 1989, 2(7): 531-534.
[4] Sutcliffe I C, Russell R R. Lipoproteins of gram-positive bacteria. Journal of bacteriology, 1995, 177(5): 1123.
[5] Kovacs-Simon A, Titball R W, Michell S L. Lipoproteins of bacterial pathogens. Infection and immunity, 2011, 79(2): 548-561.
[6] Sutcliffe I C, Hutchings M I. Putative lipoproteins identified by bioinformatic genome analysis of Leifsonia xyli ssp. xyli, the causative agent of sugarcane ratoon stunting disease. Molecular plant pathology, 2007, 8(1): 121-128.
[7] Babu M M, Priya M L, Selvan A T, et al. A database of bacterial lipoproteins (DOLOP) with functional assignments to predicted lipoproteins. Journal of bacteriology, 2006, 188(8): 2761-2773.
[8] Sutcliffe I C, Harrington D J. Lipoproteins of Mycobacterium tuberculosis: an abundant and functionally diverse class of cell envelope components. FEMS microbiology reviews, 2004, 28(5): 645-659.
[9] Hutchings M I, Palmer T, Harrington D J, et al. Lipoprotein biogenesis in Gram-positive bacteria: knowing when to hold 'em, knowing when to fold 'em. Trends in microbiology, 2009, 17(1): 13-21.
[10] Biemans-Oldehinkel E, Doeven M K, Poolman B. ABC transporter architecture and regulatory roles of accessory domains. FEBS letters, 2006, 580(4): 1023-1035.
[11] Davidson A L, Dassa E, Orelle C, et al. Structure, function, and evolution of bacterial ATP-binding cassette systems. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2008, 72(2): 317-364.
[12] Tam R, Saier M H. Structural, functional, and evolutionary relationships among extracellular solute-binding receptors of bacteria. Microbiological reviews, 1993, 57(2): 320-346.
[13] Claverys J P. A new family of high-affinity ABC manganese and zinc permeases. Research in microbiology, 2001, 152(3-4): 231-243.
[14] Deka R K, Brautigam C A, Yang X F, et al. The PnrA (Tp0319; TmpC) lipoprotein represents a new family of bacterial purine nucleoside receptor encoded within an ATP-binding cassette (ABC)-like operon in Treponema pallidum. Journal of Biological Chemistry, 2006, 281(12): 8072-8081.
[15] Liu J, Zhou J, Wang L, et al. Improving nitrogen source utilization from defatted soybean meal for nisin production by enhancing proteolytic function of Lactococcus lactis F44. Scientific Reports, 2017, 7(1): 6189.
[16] Claverys J P, Grossiord B, Alloing G. Is the Ami-AliA/B oligopeptide permease of Streptococcus pneumoniae involved in sensing environmental conditions? Research in microbiology, 2000, 151(6): 457-463.
[17] Chandler J R, Dunny G M. Enterococcal peptide sex pheromones: synthesis and control of biological activity. Peptides, 2004, 25(9): 1377-1388.
[18] Clewell D B, An F Y, Flannagan S E, et al. Enterococcal sex pheromone precursors are part of signal sequences for surface lipoproteins. Molecular microbiology, 2000, 35(1): 246-247.
[19] Igarashi T, Setlow B, Paidhungat M, et al. Effects of a gerF (lgt) mutation on the germination of spores of Bacillus subtilis. Journal of bacteriology, 2004, 186(10): 2984-2991.
[20] Pelczar P L, Igarashi T, Setlow B, et al. Role of GerD in germination of Bacillus subtilis spores. Journal of bacteriology, 2007, 189(3): 1090-1098.
[21] 刘朝，乔建军，朱宏吉．乳酸菌肽聚糖的研究进展．微生物学通报, 2016, 43(1): 188-197.
Liu Z， Qiao J J， Zhu H J. Research progress in peptidoglycan of lactic acid bacteria. Microbiology China, 2016, 43(1): 188-197.
[22] Biarrotte-Sorin S, Hugonnet J E, Delfosse V, et al. Crystal structure of a novel β-lactam-insensitive peptidoglycan transpeptidase. Journal of molecular biology, 2006, 359(3): 533-538.
[23] Lavollay M, Arthur M, Fourgeaud M, et al. The peptidoglycan of stationary-phase Mycobacterium tuberculosis predominantly contains cross-links generated by L, D-transpeptidation. Journal of bacteriology, 2008, 190(12): 4360-4366.

[24] Marraffini L A, DeDent A C, Schneewind O. Sortases and the art of anchoring proteins to the envelopes of gram-positive bacteria. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2006, 70(1): 192-221.

[25] Kontinen V P, Sarvas M. The PrsA lipoprotein is essential for protein secretion in Bacillus subtilis and sets a limit for high-level secretion. Molecular microbiology, 1993, 8(4): 727-737.

[26] Pahl A, Keller U. Streptomyces chrysomallus FKBP-33 is a novel immunophilin consisting of two FK506 binding domains; its gene is transcriptionally coupled to the FKBP-12 gene. The EMBO journal, 1994, 13(15): 3472-3480.

[27] Hermans P W M, Adrian P V, Albert C, et al. The streptococcal lipoprotein rotamase A (SlrA) is a functional peptidyl-prolyl isomerase involved in pneumococcal colonization. Journal of Biological Chemistry, 2006, 281(2): 968-976.

[28] Serek J, Bauer-Manz G, Struhalla G, et al. Escherichia coli YidC is a membrane insertase for Sec-independent proteins. The EMBO journal, 2004, 23(2): 294-301.

[29] Heras B, Kurz M, Jarrott R, et al. Staphylococcus aureus DsbA Does Not Have a Destabilizing Disulfide A NEW PARADIGM FOR BACTERIAL OXIDATIVE FOLDING. Journal of Biological Chemistry, 2008, 283(7): 4261-4271.

[30] Ganeshkumar N, Song M, McBride B C. Cloning of a Streptococcus sanguis adhesin which mediates binding to saliva-coated hydroxyapatite. Infection and immunity, 1988, 56(5): 1150-1157.

[31] Zheng F, Shao Z Q, Hao X, et al. Identification of oligopeptide-binding protein (OppA) and its role in the virulence of Streptococcus suis serotype 2. Microbial pathogenesis, 2018,118:322-329.

[32] Nguyen M T, Uebele J, Kumari N, et al. Lipid moieties on lipoproteins of commensal and non-commensal staphylococci induce differential immune responses. Nature communications, 2017, 8(1): 2246.

[33] Nguyen M T, Götz F. Lipoproteins of Gram-positive bacteria: key players in the immune response and virulence. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2016, 80(3): 891-903.

[34] Buddelmeijer N. The molecular mechanism of bacterial lipoprotein modification—How, when and why?. FEMS microbiology reviews, 2015, 39(2): 246-261.

[35] Vogeley L, El Arnaout T, Bailey J, et al. Structural basis of lipoprotein signal peptidase II action and inhibition by the antibiotic globomycin. Science, 2016, 351(6275): 876-880.

[36] Narita S, Tokuda H. Bacterial lipoproteins; biogenesis, sorting and quality control. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids, 2016,1862:1414-1423.

[37] Nakayama H, Kurokawa K, Lee B L. Lipoproteins in bacteria: structures and biosynthetic pathways. The FEBS journal, 2012, 279(23): 4247-4268.

[38] Kumari N, Götz F, Nguyen M T. Aspartate tightens the anchoring of staphylococcal lipoproteins to the cytoplasmic membrane. MicrobiologyOpen, 2017, 6(6).

[39] Robichon C, Vidal-Ingigliardi D, Pugsley A P. Depletion of apolipoprotein N-acyltransferase causes mislocalization of outer membrane lipoproteins in Escherichia coli. Journal of Biological Chemistry, 2005, 280(2): 974-983.

[40] Sankaran K, Gupta S D, Wu H C. [49] Modification of bacterial lipoproteins[M]//Methods in enzymology. Academic Press, 1995, 250: 683-697.

[41] Baumgärtner M, Kärst U, Gerstel B, et al. Inactivation of Lgt allows systematic characterization of lipoproteins from Listeria monocytogenes. Journal of bacteriology, 2007, 189(2): 313-324.

[42] Stoll H, Dengjel J, Nerz C, et al. Staphylococcus aureus deficient in lipidation of prelipoproteins is attenuated in growth and immune activation. Infection and immunity, 2005, 73(4): 2411-2423.

[43] Malinverni J C, Werner J, Kim S, et al. YfiO stabilizes the YaeT complex and is essential for outer membrane protein assembly in Escherichia coli. Molecular microbiology, 2006, 61(1): 151-164.

[44] Venema R, Tjalsma H, van Dijl J M, et al. Active Lipoprotein Precursors in the Gram-positive Eubacterium Lactococcus lactis. Journal of Biological Chemistry, 2003, 278(17): 14739-14746.

[45] Leskelä S, Wahlström E, Kontinen V P, et al. Lipid modification of prelipoproteins is dispensable for growth but essential for efficient protein secretion in Bacillus subtilis: characterization of the lgt gene. Molecular microbiology, 1999, 31(4): 1075-1085.

[46] Tjalsma H, Kontinen V P, Prágai Z, et al. The Role of Lipoprotein Processing by Signal Peptidase II in the Gram-positive Eubacterium Bacillus subtilis SIGNAL PEPTIDASE II IS REQUIRED FOR THE EFFICIENT SECRETION OF α-AMYLASE, A NON-LIPOPROTEIN. Journal of Biological Chemistry, 1999, 274(3): 1698-1707.

[47] Sander P, Rezwan M, Walker B, et al. Lipoprotein processing is required for virulence of Mycobacterium tuberculosis. Molecular microbiology, 2004, 52(6): 1543-1552.
[48] Skerry C, Klinkenberg L G, Page K R, et al. TLR2-modulating lipoproteins of the Mycobacterium tuberculosis complex enhance the HIV infectivity of CD4+ T cells. PloS one, 2016, 11(1): e0147192.
[49] Charlton T M, Kovacs-Simon A, Michell S L, et al. Quantitative lipoproteomics in Clostridium difficile reveals a role for lipoproteins in sporulation. Chemistry & biology, 2015, 22(11): 1562-1573.
[50] Schmaler M, Jann N J, Ferracin F, et al. Lipoproteins in Staphylococcus aureus mediate inflammation by TLR2 and iron-dependent growth in vivo. The Journal of Immunology, 2009, 182(11): 7110-7118.
[51] Wardenburg J B, Williams W A, Missiakas D. Host defenses against Staphylococcus aureus infection require recognition of bacterial lipoproteins. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2006, 103(37): 13831-13836.
[52] Graf A, Lewis R J, Fuchs S, et al. The hidden lipoproteome of Staphylococcus aureus. International Journal of Medical Microbiology, 2018.
[53] Hanzelmann D, Joo H S, Franz-Wachtel M, et al. Toll-like receptor 2 activation depends on lipopeptide shedding by bacterial surfactants. Nature communications, 2016, 7: 12304.
[54] Coulter S N, Schwan W R, Ng E Y W, et al. Staphylococcus aureus genetic loci impacting growth and survival in multiple infection environments. Molecular microbiology, 1998, 30(2): 393-404.
[55] Mei J M, Nourbakhsh F, Ford C W, et al. Identification of Staphylococcus aureus virulence genes in a murine model of bacteraemia using signature-tagged mutagenesis. Molecular microbiology, 1997, 26(2): 399-407.
[56] Bray B A, Sutcliffe I C, Harrington D J. Impact of lgt mutation on lipoprotein biosynthesis and in vitro phenotypes of Streptococcus agalactiae. Microbiology, 2009, 155(5): 1451-1458.
[57] Henneke P, Dramsi S, Mancuso G, et al. Lipoproteins are critical TLR2 activating toxins in group B streptococcal sepsis. The Journal of Immunology, 2008, 180(9): 6149-6158.
[58] Petit C M, Brown J R, Ingraham K, et al. Lipid modification of prelipoproteins is dispensable for growth in vitro but essential for virulence in Streptococcus pneumoniae. FEMS microbiology letters, 2001, 200(2): 229-233.
[59] Khandavilli S, Homer K A, Yuste J, et al. Maturation of Streptococcus pneumoniae lipoproteins by a type II signal peptidase is required for ABC transporter function and full virulence. Molecular microbiology, 2008, 67(3): 541-557.
[60] Kim A R, Ahn K B, Kim H Y, et al. Streptococcus gordonii lipoproteins induce IL-8 in human periodontal ligament cells. Molecular immunology, 2017, 91: 218-224.
[61] Kim H Y, Baik J E, Ahn K B, et al. Streptococcus gordonii induces nitric oxide production through its lipoproteins stimulating Toll-like receptor 2 in murine macrophages. Molecular immunology, 2017, 82: 75-83.
[62] Baumgärtner M, Kärst U, Gerstel B, et al. Inactivation of Lgt allows systematic characterization of lipoproteins from Listeria monocytogenes. Journal of bacteriology, 2007, 189(2): 313-324.
[63] Machata S, Tchatalbachev S, Mohamed W, et al. Lipoproteins of Listeria monocytogenes are critical for virulence and TLR2-mediated immune activation. The Journal of Immunology, 2008, 181(3): 2028-2035.
[64] Réglier-Poupet H, Frehel C, Dubail I, et al. Maturation of lipoproteins by type II signal peptidase is required for phagosomal escape of Listeria monocytogenes. Journal of Biological Chemistry, 2003, 278(49): 49469-49477.
[65] Reffuveille F, Serror P, Chevalier S, et al. The prolipoprotein diacylglyceryl transferase (Lgt) of Enterococcus faecalis contributes to virulence. Microbiology, 2012, 158(3): 816-825.
[66] Okugawa S, Moayeri M, Pomerantsev A P, et al. Lipoprotein biosynthesis by prolipoprotein diacylglyceryl transferase is required for efficient spore germination and full virulence of Bacillus anthracis. Molecular microbiology, 2012, 83(1): 96-109.
[67] Thompson B J, Widdick D A, Hicks M G, et al. Investigating lipoprotein biogenesis and function in the model Gram-positive bacterium Streptomyces coelicolor. Molecular microbiology, 2010, 77(4): 943-957.
[68] Arimoto T, Igarashi T. Role of prolipoprotein diacylglyceryl transferase (Lgt) and lipoprotein-specific signal peptidase II (LspA) in localization and physiological function of lipoprotein MsmE in Streptococcus mutans. Molecular Oral Microbiology, 2008, 23(6): 515-519.
[69] Bartual S G, Alcorlo M, Martínez-Caballero S, et al. Three-dimensional structures of Lipoproteins from Streptococcus pneumoniae and Staphylococcus aureus. International Journal of Medical Microbiology, 2017.

[70] Sigal L H, Zahradnik J M, Lavin P, et al. A vaccine consisting of recombinant Borrelia burgdorferi outer-surface protein A to prevent Lyme disease. New England Journal of Medicine, 1998, 339(4): 216-222.
[71] 陈国忠,张燕娇,陈师勇.革兰氏阴性菌脂蛋白 Lol 系统转运蛋白的功能及表面展示分泌机制.微生物学报,2017,57(12):1769-1777.
Chen G Z, Zhang Y J, Chen S Y. Functions of Lol system proteins and surface-exposed mechanisms of lipoproteins in gram-negative bacteria. Microbiology China, 2017,57(12):1769-1777.
[72] Foster T J, Geoghegan J A, Ganesh V K, et al. Adhesion, invasion and evasion: the many functions of the surface proteins of Staphylococcus aureus. Nature Reviews Microbiology, 2014, 12(1): 49.
[73] Kehl-Fie T E, Zhang Y, Moore J L, et al. MntABC and MntH contribute to systemic Staphylococcus aureus infection by competing with calprotectin for nutrient manganese. Infection and immunity, 2013, 81(9): 3395-3405.
[74] Anderson A S, Scully I L, Timofeyeva Y, et al. Staphylococcus aureus manganese transport protein C is a highly conserved cell surface protein that elicits protective immunity against S. aureus and Staphylococcus epidermidis. The Journal of infectious diseases, 2012, 205(11): 1688-1696.
[75] Mariotti P, Malito E, Biancucci M, et al. Structural and functional characterization of the Staphylococcus aureus virulence factor and vaccine candidate FhuD2. Biochemical Journal, 2013, 449(3): 683-693.
[76] Podkowa K J, Briere L A K, Heinrichs D E, et al. Crystal and solution structure analysis of FhuD2 from Staphylococcus aureus in multiple unliganded conformations and bound to ferrioxamine-B. Biochemistry, 2014, 53(12): 2017-2031.
[77] Mishra R P N, Mariotti P, Fiaschi L, et al. Staphylococcus aureus FhuD2 is involved in the early phase of staphylococcal dissemination and generates protective immunity in mice. The Journal of infectious diseases, 2012, 206(7): 1041-1049.
[78] Koponen O, Takala T M, Saarela U, et al. Distribution of the NisI immunity protein and enhancement of nisin activity by the lipid-free NisI. FEMS microbiology letters, 2004, 231(1): 85-90.
[79] Takala T M, Koponen O, Qiao M, et al. Lipid-free NisI: interaction with nisin and contribution to nisin immunity via secretion. FEMS microbiology letters, 2004, 237(1): 171-177.